

Е. В. Нижникова, А. П. Подтероб

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКИХ ДИАГНОСТИКУМОВ С ПОМОЩЬЮ ИОНОСЕЛЕКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ ТРИОКТИЛОКСИБЕНЗОЛСУЛЬФОКИСЛОТЫ

Белорусский государственный университет

*Разработаны пленочные поливинилхлоридные, пластифицированные дибутилфталатом, ионоселективные электроды на основе солей триоктилоксибензолсульфокислоты, обратимые к катионам основных красителей (метиленового синего и азура А) с целью контроля качества растворов для гематологических исследований. Получен акт внедрения азур-селективного электрода для выходного контроля медицинских диагностикумов, производимых в Белорусском государственном университете.*

Для гематологических исследований широко используются водные и спиртовые растворы красителей: метиленового синего (МС), азура А, эозина, а также их смесей. Красители основного характера (МС, азур А, В, С) труднорастворимы в воде, а сам процесс растворения невозможно контролировать визуально. Кроме того, как правило, данные красители не обладают аналитической чистотой. Поэтому возникают сложности в приготовлении растворов заданного состава. Фотометрический метод для определения точной концентрации растворов для гематологических исследований не используется из-за отсутствия данных по коэффициентам экстинкции и зависимости спектра поглощения от концентрации [1]. Йодометрическое определение МС [2] имеет существенные недостатки: нечеткий переход окраски при прямом титровании разбавленных растворов МС раствором  $I_2$  и выпадение хлопьевидного, затрудняющего анализ осадка при

титровании более концентрированных растворов.

Учитывая использование МС не только в гематологических исследованиях, но и в фармации в качестве антисептика, в экспериментальной химии для оценки активности сорбентов, в биохимии для окрашивания зон [1], разработку новых количественных методов анализа МС и родственных красителей следует считать актуальной задачей.

Целью настоящей работы является разработка методики потенциометрического анализа растворов для гематологических исследований, содержащих красители основного характера.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В данной работе для контроля качества медицинских диагностикумов были разработаны ионоселективные электроды (ИСЭ) на основе триоктилоксибензолсульфокислоты, обратимые к катионам основных красителей: МС и азура А.

Первым этапом данного исследования было изготовление пластифицированной дибутилфталатом поливинилхлоридной мембраны ИСЭ с калиевой солью триоктилоксибензолсульфокислоты ( $K^+TOBC^-$ ). Мембрану готовили по стандартной методике [3], исходя из следующего состава: 2 г поливинилхлорида (ПВХ), 4 г дибутилфталата (ДФФ),  $K^+TOBC^- \cdot 10^{-2}$  моль/л в расчете на ДБФ, 30 мл циклогексанона (ЦГ). После тщательного перемешивания компонентов раствор выливали в чашку Петри диаметром 10 см для испарения ЦГ и получения эластичной пленки. После наклеивания мембраны на корпус электрода ее переводили в электродоактивную форму, т. е. выдерживали в течение суток в насыщенном растворе соответствующего красителя (МС или азура А).

Для электрода, обратимого к метиленовой сини ( $MC^+$ -ИСЭ), определяли электродные функции. Пределы обнаружения (НПО и ВПО) и наклон электродной функции  $\theta$  определяли по градуировочному

графику (рис.1). Они составили  $5,50 \times 10^{-7}$ ,  $2,57 \times 10^{-4}$  моль/л и 20 мВ/рС соответственно. Для изучения влияния рН на наклон электродной функции снимали показания ИСЭ в диапазоне рН = 2 ÷ 10. Значения рН регистрировали рН - метром. Результат влияния рН на наклон электродной функции показан на рис.2. Изготовленный

электрод характеризуется быстрым установлением потенциала (0,5 мин) при переходе от разбавленных растворов к концентрированным. В случае перехода от концентрированных к разбавленным растворам требуется отмывка электрода в течение 5 - 10 мин, что можно также контролировать визуально.

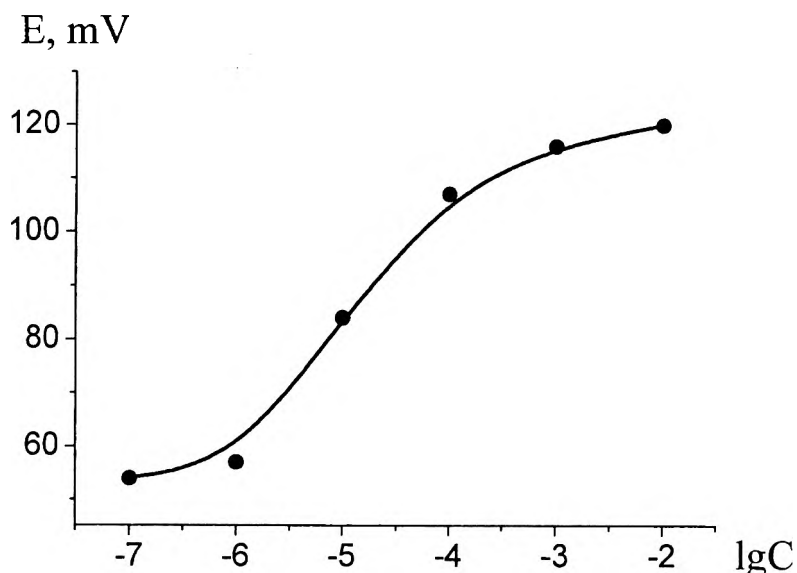


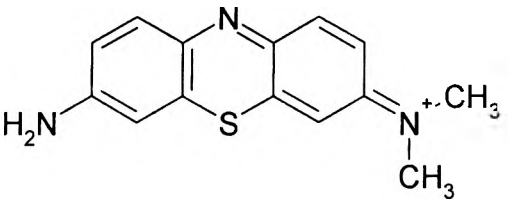
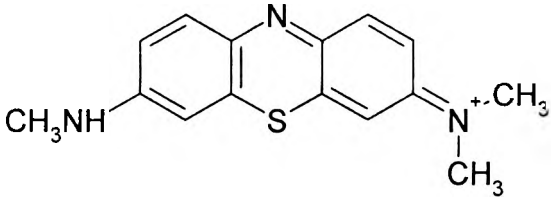
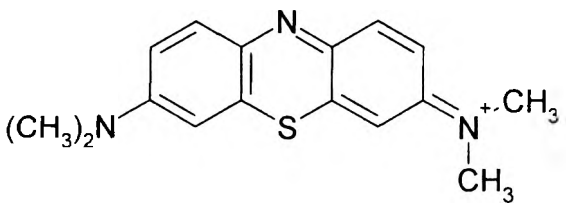
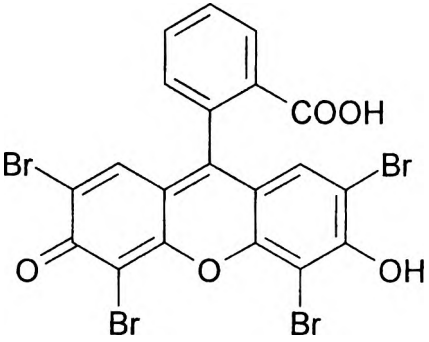
Рис.1. Градуировочный график  $MS^{+}$ -ИСЭ.

Концентрации красителей в медицинских диагностикумах определяли методом осадительного потенциометрического титрования раствором тетрафенилбората натрия ( $Na^{+}TФБ^{-}$ ) с использованием электродной пары: ИСЭ – хлоридсеребряный электрод сравнения, заполненный насыщенным раствором NaCl (ЭВЛ – 1МЗ.1). Аликвоту исследуемого раствора 2 мл перед титрованием разбавляли в 5 раз дистиллированной водой. Изменение потенциала регистрировали иономером ЭВ-74 приблизительно через 1 мин после прибавления очередной порции титранта. Использовали микробюретку с ценой деления 0,01 мл. Вблизи точки эквивалентности титрант прибавляли порциями по 0,05 мл.

Соответствующие кривые титрования приведены на рис. 3 - 5. Точную концентрацию  $Na^{+}TФБ^{-}$  устанавливали путем осадительного потенциометрического титрования раствором KCl с использованием в качестве индикаторного электрода  $K^{+}$ -ИСЭ с мембраной на основе валиномицина.

Метод осадительного потенциометрического титрования позволяет рассчитать лишь молярность раствора. От молярной концентрации, зная молекулярные массы красителей, состав ионного ассоциата (например, азур - эозин, 1 : 1) и плотность раствора, легко перейти к массовой доле красителя в %. Данные, необходимые для проведения расчетов, собраны в табл.1, 2.

**НАЗВАНИЯ, ФОРМУЛЫ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАССЫ  
ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В РАБОТЕ КРАСИТЕЛЕЙ.**

| Название красителя   | Молекулярная масса | Формула  |
|----------------------|--------------------|--|
| Азур А               | 291,80             |  <chem>CN(C)C1=CC=C2C(=C1)N=C3C(=CC=C3S2)C=C4C(=CC=C4N)N</chem>                        |
| Азур В<br>или Азур I | 305,83             |  <chem>CN(C)C1=CC=C2C(=C1)N=C3C(=CC=C3S2)C=C4C(=CC=C4NC)N</chem>                       |
| Метиленовый<br>синий | 319,90             |  <chem>CN(C)C1=CC=C2C(=C1)N=C3C(=CC=C3S2)C=C4C(=CC=C4N(C)C)N</chem>                  |
| Эозин Y              | 647,90             |  <chem>O=C(O)c1ccccc1C2=C3C(=C(C(=C2)Br)C(=O)O)OC4=C(C(=C3)Br)C(=C(C(=C4)Br)O</chem> |

**НАЗВАНИЯ, СОСТАВ И КОНЦЕНТРАЦИИ (СОГЛАСНО ДОКУМЕНТАЦИИ)  
РАСТВОРОВ КРАСИТЕЛЕЙ ДЛЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.**

| Название реагента<br>и фирма-<br>производитель  | Красители   | Плотность<br>реагента, г/мл | Концентрация<br>красителя в<br>реагенте, мас.<br>% |
|---|---|-----------------------------|--|
| Эозин-метиленовый<br>синий по Май-<br>Грюнвальду<br>(НТПК «Анализ X»)                                     | Эозин и Азур II в эквимо-<br>лярном соотношении<br>(Азур II - смесь Азура I и<br>МС в эквимолярном со-<br>отношении). | 0,789                       | 0,25   |
| Эозин-метиленовый<br>синий по Май-<br>Грюнвальду<br>(Fluka)   | То же самое   | 0,789                       | 0,25   |
| Эозин-метиленовый<br>синий по Май-<br>Грюнвальду для ана-<br>лизаторов<br>“Немо-Тек”<br>(НТПК «Анализ X») | То же самое   | 0,788                       | 0,72   |

Плотности растворов для гематологиче-  
ских исследований определяли путем  
взвешивания на аналитических весах фик-  
сированных объемов.

Результаты анализа растворов краси-  
телей сведены в табл.3.

**РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ОПЫТНЫХ ПАРТИЙ РАСТВОРОВ КРАСИТЕЛЕЙ  
И РАСТВОРА ФИРМЫ FLUKA  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЗУР-СЕЛЕКТИВНОГО ЭЛЕКТРОДА.**

| Название реагента   | Результат измерения концентрации, мас. %<br>(n = 3, P = 0,95) | Относительная ошибка измерения концентрации, % |
|---|---|--|
| Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду (НТПК «Анализ X»)                             | 0,30 ± 0,02   | 7  |
| Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду (Fluka)                                       | 0,25 ± 0,02   | 8  |
| Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду для анализаторов «Немо-Тек» (НТПК «Анализ X») | 0,63 ± 0,02   | 3  |

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

ИСЭ, обратимый к метиленовой сини, характеризуется малым наклоном электродной функции  $\theta$  и ее выраженной зависимостью от pH (рис. 1, 2). Поэтому использование  $MC^+$ -ИСЭ в прямой потенциометрии малопригодно. Резкое снижение  $\theta$  с уменьшением pH связано, возможно, с наличием в молекуле МС нескольких атомов азота, которые протонируются в кислой среде. Образование многозарядных катионов и приводит к уменьшению  $\theta$ . Однако, как показали предварительные исследования, ИСЭ, обратимые к

МС и азуру А, дают достаточно точные и воспроизводимые результаты при потенциометрическом титровании красителей раствором  $Na^+TФБ^-$ . Причем заметных различий при титровании одного и того же раствора с применением разных ИСЭ не наблюдалось, что объясняется близостью структур данных красителей и их одинаковой электродной активностью. На рис. 3 приведена типичная кривая титрования реагента «Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду» (НТПК «Анализ X») с использованием азур-селективного электрода.

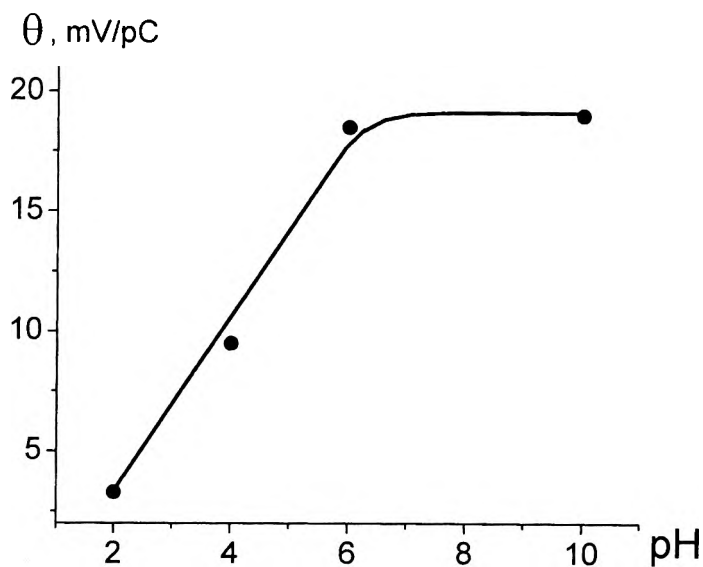


Рис.2. Влияние pH на наклон электродной функции  $MS^+$ -ИСЭ.

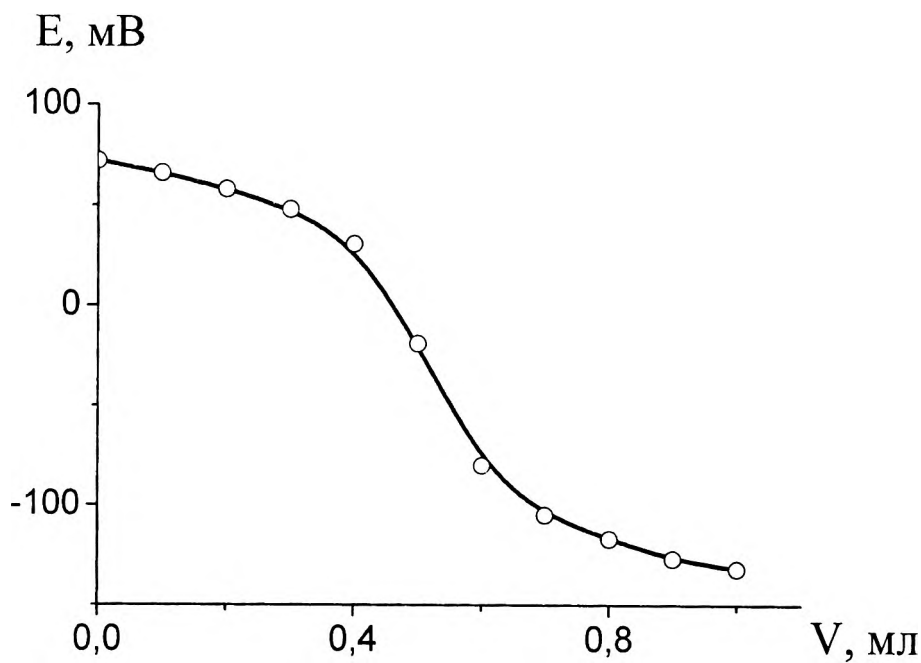


Рис.3. Кривая титрования реагента “Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду” (НТПК “Анализ Х”)  $10^{-2}$  н раствором  $Na^+ТФБ^-$ .

2 мл метанольного раствора реагента перед титрованием разбавляли дистиллированной водой до 10 мл. Рассчитанная массовая доля красителя в реагенте составила

$0,30 \pm 0,02 \%$  (табл.3), молярная концентрация -  $2,55 \times 10^{-3}$  М. Титрование того же реагента с использованием  $MS^+$ -ИСЭ дало значения  $0,31 \pm 0,02 \%$  и  $2,63 \times 10^{-3}$  М.

Т. о., результат, полученный при титровании реагента с разными ИСЭ, в пределах ошибок эксперимента совпадает. Поскольку растворы для гематологических исследований содержат, как правило, не один, а два красителя основного характера (см. табл.2), весьма близких по структуре и свойствам, то целесообразно определять их суммарное количество в растворе, применяя один тип ИСЭ.

На рис. 4, 5 приведены типичные кривые потенциометрического титрования других реагентов для гематологических исследований с использованием азурселективного электрода. Видно, что скачки потенциала вблизи точки эквивалентности составляют около 150 мВ, что позволяет достаточно точно определить объем титранта.

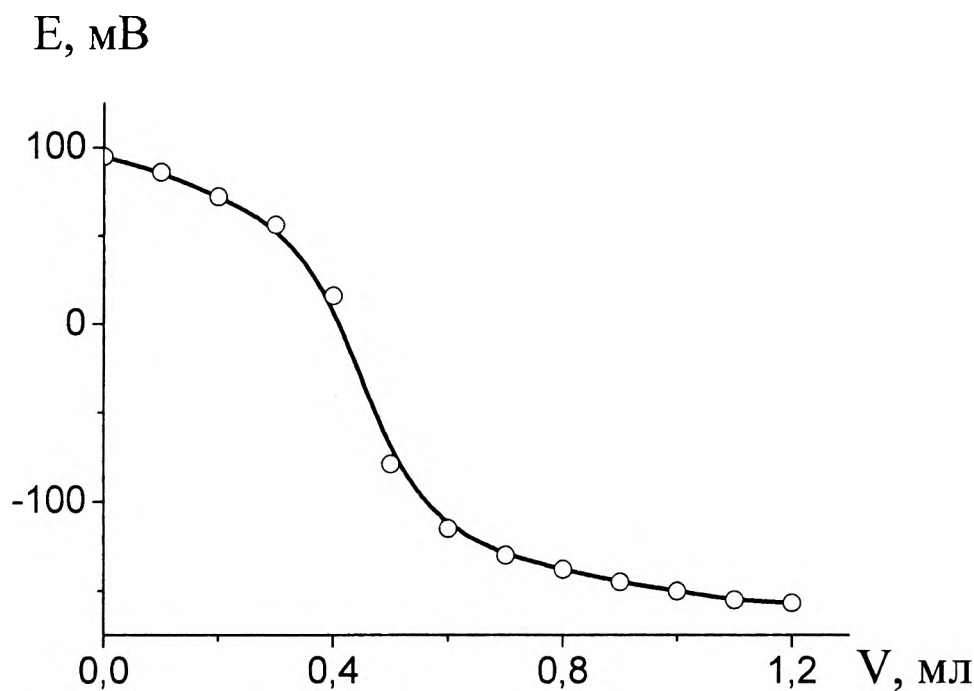


Рис.4. Кривая титрования реагента “ Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду ” (Fluka)  $10^{-2}$  н раствором  $\text{Na}^+\text{ТФБ}^-$ .

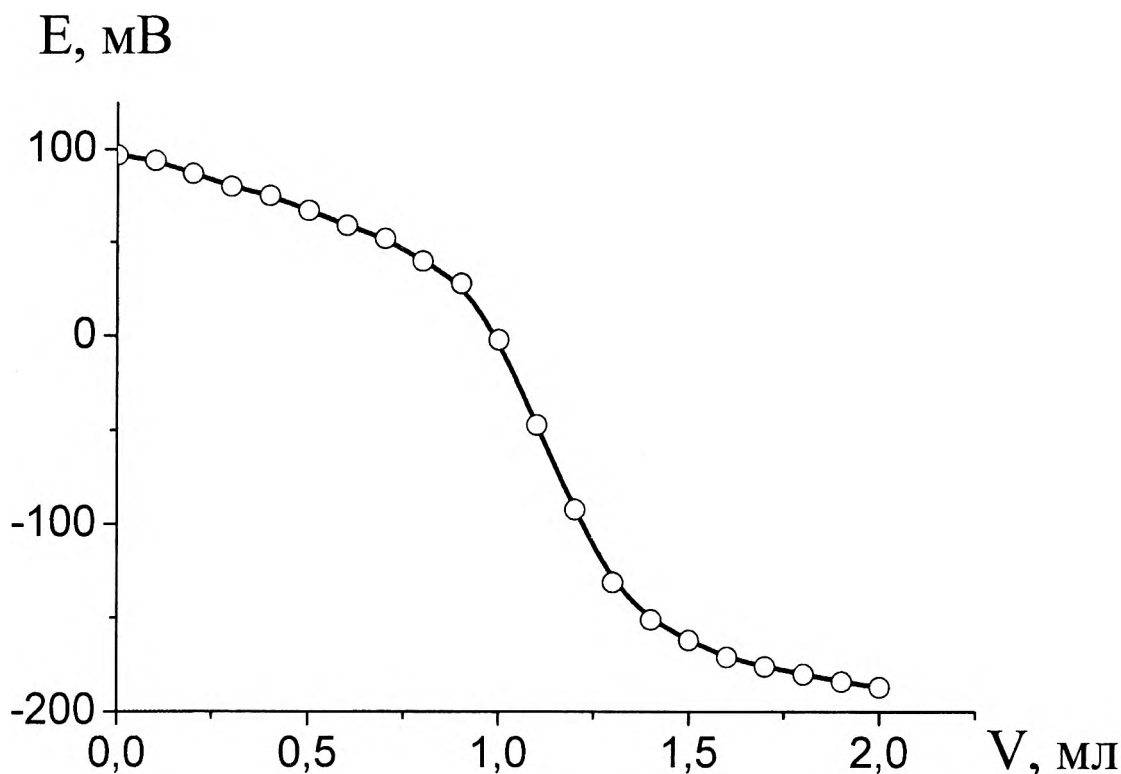


Рис.5. Кривая титрования реагента “Эозин-метиленовый синий по Май-Грюнвальду для анализаторов Немо-Тек”  $10^{-2}$  н раствором  $\text{Na}^+\text{TФБ}^-$ .

#### ВЫВОДЫ:

Пленочные ИСЭ на основе солей три-октилоксибензолсульфокислоты, обратимые к катионам метиленовой сини и азура А, позволяют количественно определять данные красители в растворах, и могут быть использованы для выходного контроля медицинских диагностикумов в процессе их производства.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Справочник биохимика: Пер. с англ./ Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. - М.: Мир, 1991. - 544 с.
2. Халецкий А. М. Фармацевтическая химия. - Л., "Медицина", 1966. - 762 с.
3. Репин В. А., Егоров В. В., Старобинец Г. Л. Прямое потенциометрическое определение некоторых физиологически активных аминов в фармацевтических рецептурах с помощью ионоселективных электродов // Журн. аналит. хи-

ми. - 1988. - Т. 43, № 7. - С. 1318 - 1322.

#### SUMMARY

NIZHNIKOVA E.V., PODTEROB A.P.

#### MEDICAL DIAGNOSTICUMS QUALITY CONTROL USING THE ION-SELECTIVE ELECTRODES ON THE BASIS OF TRIOCTYLOXYBENZENESULFACID SALTS

The membranous, polyvinylchloride ion-selective electrodes on the basis of trioctyloxybenzenesulfacid salts, plasticized by dibutylphthalate and reversible to the basic dyestuffs cations (methylene-blue and azure A) were elaborated for the purpose of hematologic investigations solutions quality control. The application of the azure-selective electrode for the medical diagnosticums, produced in BSU, product test was received.